

На правах рукописи



СТРЕЛЬНИК АЛЕКСЕЙ ДМИТРИЕВИЧ

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДОКСИНА**

02.00.03 – Органическая химия.

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

КАЗАНЬ - 2009

Работа выполнена в Химическом институте им. А.М. Бутлерова ГОУ ВПО “Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина”

Научный руководитель: кандидат химических наук, с.н.с.
Штырлин Юрий Григорьевич

Официальные оппоненты: доктор химических наук,
профессор
Никитина Лилия Евгеньевна

доктор химических наук,
профессор
Бурилов Александр Романович

Ведущая организация: ГОУ ВПО “Казанский государственный технологический университет”

Защита состоится « 28 » января 2010 г. в 14.30 ч. на заседании диссертационного совета Д 212.081.03 при Казанском государственном университете им. В. И. Ульянова-Ленина по адресу: ул. Кремлевская, 18, Химический институт им. А. М. Бутлерова КГУ, Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского государственного университета.

Отзывы на автореферат просим направлять по адресу: 420008, г.Казань, ул. Кремлевская, 18, КГУ, Химический институт им. А.М. Бутлерова.

Автореферат разослан «__» декабря 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного Совета,
кандидат химических наук



Казымова М. А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Направленный синтез нового поколения биологически активных соединений, сочетающих в себе высокую эффективность и низкую токсичность, является одним из приоритетных направлений современной органической химии.

В области науки и техники общеприняты способы внутриклеточной доставки активных веществ, основанные на преодолении защитных барьеров организма, к числу которых относятся, в частности, кожные покровы, оболочки органов и клеточные мембраны. Многие активные вещества плохо преодолевают эти барьеры вследствие высокой гидрофильности, которая ограничивает их транспорт через липидные барьеры (например, межклеточный жировой слой кожи и липидные мембраны клеток). Накоплению активных веществ в устойчивых к ним клетках, таких как опухолевые клетки и патогенные микроорганизмы, также препятствует высокая активность в этих клетках мембранных транспортных белков, которые осуществляют выброс веществ из цитоплазмы. Для достижения нужной терапевтической концентрации активного вещества в клетке или органе-мишени традиционным подходом является увеличение используемой дозы вещества в организме. В результате увеличиваются побочные эффекты активного вещества, которые часто превосходят по последствиям положительный терапевтический эффект от его применения.

В связи с этим перспективным подходом к увеличению проницаемости биологических барьеров для активных веществ является создание эффективных и безопасных систем их внутриклеточного транспорта. Создание подобных транспортных систем позволит значительно уменьшить терапевтическую дозу активных веществ, и, как следствие, их побочные эффекты, и тем самым совершить качественный прорыв в фармакологии и медицине.

В течение последних лет в Химическом институте им. А.М. Бутлерова проводится систематическое изучение химических, биологических и физических свойств производных пиридоксина - одного из ключевых витаминов, вовлеченных в метаболизм с более чем 50 ферментами. Установлены факторы, определяющие пространственное строение семичленного гетероцикла в зависимости от природы заместителей у фенольного атома кислорода и ацетального атома углерода, начаты исследования *in vitro* и *in vivo* антибактериальных и антихолинэстеразных свойств ацеталей и кеталей пиридоксина.

Основываясь на полученных результатах, представлялось целесообразным направить дальнейшие усилия, во-первых, на синтез широкого круга транспортных систем на основе производных пиридоксина, содержащих фармакофорные группы в третьем и шестом положениях пиридинового цикла.

Во-вторых, провести скрининг их антибактериальной и антихолинэстеразной активности и, в-третьих, на основе выявленных фундаментальных закономерностей “структура – биологическая активность” оптимизировать состав и структуру лабораторных образцов для проведения стадии доклинических испытаний.

Целью работы является направленный синтез широкого круга производных ацеталей и кеталей пиридоксина, различающихся по гидрофильно-липофильному балансу, и установление основных закономерностей взаимосвязи структуры соединений с их антибактериальной и антихолинэстеразной активностью.

Научная новизна работы состоит в том, что впервые:

- синтезированы семичленные ацетали пиридоксина с липофильными заместителями у ацетального атома углерода;
- получены новые карбамоилированные и азопроизводные пиридоксина - структурные аналоги лекарственных препаратов калимина и сульфасалазина;
- обнаружена необычная реакция образования [9,9'-(гексан-1,6-дикарбамоилокси)бис(1,5-дигидро-3,3,8-триметил-7-этил-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридиний)]дибромида из соответствующего биспиридинового основания алкилированием метилбромидом в присутствии бутиллития;
- установлены факторы, определяющие бактериостатическую *in vitro* и антихолинэстеражную *in vivo* активность. Антихолинэстеразные свойства карбамоилированных ацеталей пиридоксина и антибактериальная активность 6-азасульфаниловых производных определяются липофильными свойствами соединений и устойчивостью ацетального цикла к гидролизу. Варьирование в широких пределах липофильности сульфаниламидных производных ацеталей пиридоксина не оказывает существенного влияния на их антибактериальную активность.

Практическая значимость. Разработаны подходы к синтезу кинетически контролируемых семичленных и термодинамически выгодных шестичленных ацеталей пиридоксина с длинноцепочечными алифатическими заместителями у ацетального атома углерода. На основе исследования антибактериальных и антихолинэстеражных свойств полученных соединений установлены основные закономерности влияния структуры производных пиридоксина на их биологическую активность. Показано, что использование пиридоксинового “скелета” для доставки фармакофорных групп внутрь живой

Автор выражает глубокую признательность к.х.н. Петухову А.С. за всестороннюю помощь при проведении работы, д.х.н., профессору Климовицкому Е.Н., к.б.н., доценту Никитиной Е.В., д.б.н., профессору Зобову В.В. за ценные советы и консультации.

клетки является перспективным направлением медицинской химии. Некоторые из полученных в работе лабораторных образцов, проявивших в ходе скрининга высокую антибактериальную и антихолинэстеразную активность, находятся на стадии доклинических испытаний.

Апробация работы. Основные результаты диссертации докладывались: на V Республиканской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов (Казань, 2005 г.), XIV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных “Ломоносов-2007” (Москва, 2007 г.), I Международной конференции “Новые направления в химии гетероциклических соединений” (Кисловодск, 2009), VIII и IX Научной конференции молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра Казанского государственного университета “Материалы и технологии XXI века” (Казань, 2008 и 2009 гг.), итоговой научной конференции Казанского государственного университета (Казань, 2008).

Работа выполнена в Химическом институте им. А.М.Бутлерова под руководством зав. отделом прикладной химии, к.х.н. Штырлина Ю.Г. и является частью исследований по основному научному направлению Химического института им. А.М. Бутлерова “Строение, реакционная способность и практически полезные свойства органических, элементоорганических и координационных соединений”. Работа имела поддержку программы Минобразования и науки РФ “Развитие научного потенциала высшей школы на 2009-2010 г.г.” (РНП 2.2.2.2/5013), молодежного гранта РТ “Синтез лекарственных препаратов нового поколения на основе элементоорганических и гетероциклических соединений” (N 03-4 /2008).

Публикации. По материалам диссертации опубликованы: 1 статья в рецензируемом журнале, 1 статья в сборнике и 5 тезисов докладов на конференциях разного уровня.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 128 страницах, содержит 7 таблиц, 21 рисунок. Работа состоит из введения, трех глав, выводов, списка цитируемой литературы из 149 наименований и приложения на 7 страницах.

В обзоре литературы, приведенном в первой главе, кратко рассмотрены химия группы витамина B₆, синтез и антибактериальные свойства производных сульфаниламида и сульфаниловой кислоты. Здесь же представлены сведения об антихолинэстеразных соединениях, их классификация и механизмы ингибирования холинэстераз. Существенное внимание уделено строению активных центров ферментов.

Вторая глава представляет собой обсуждение полученных результатов. В первом разделе приведено описание методик получения семичленных ацеталей, кеталей пиридоксина и их производных. Во втором разделе представлены результаты исследования влияния строения сульфаниламидных и сульфаниловых производных пиридоксина на антибактериальную активность. В

третьем разделе обсуждаются антихолинэстеразные свойства *in vivo* широкого ряда карбамоилированных ацеталей пиридоксина и формулируются основные закономерности “структура – биологическая активность”.

Третья глава содержит описание экспериментальной части работы: методики синтеза соединений, исходные вещества, аппаратура.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Синтез производных пиридоксина

Изменение липофильности производных пиридоксина достигалось путем варьирования заместителей у ацетального атома углерода и атома углерода сложноэфирной группы в третьем положении пиридинового цикла.

Семичленные ацетали пиридоксина **I(a,б)** были получены по известным методикам (схема 1).

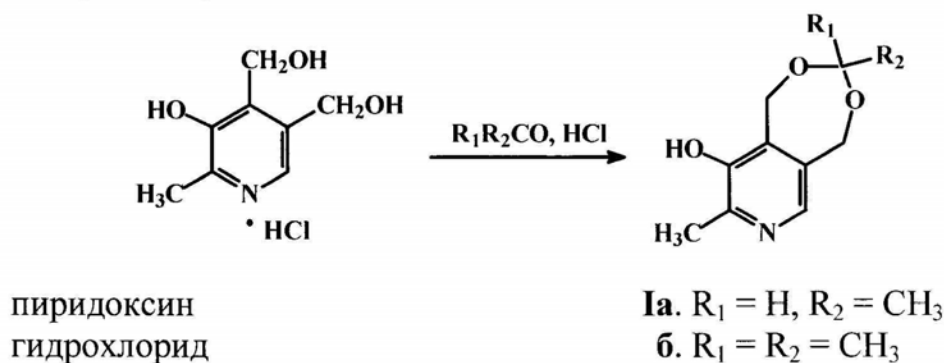


Схема 1

Конденсацией пиридоксина с альдегидами в среде абсолютного ДМСО, высушенного над молекулярными ситами 4Å, были получены ацетали **I(в-е)** (схема 2). При дальнейшем увеличении длины алкильного заместителя у ацетального атома углерода выходы продуктов значительно понижаются и выделить их из реакционной массы не удастся.

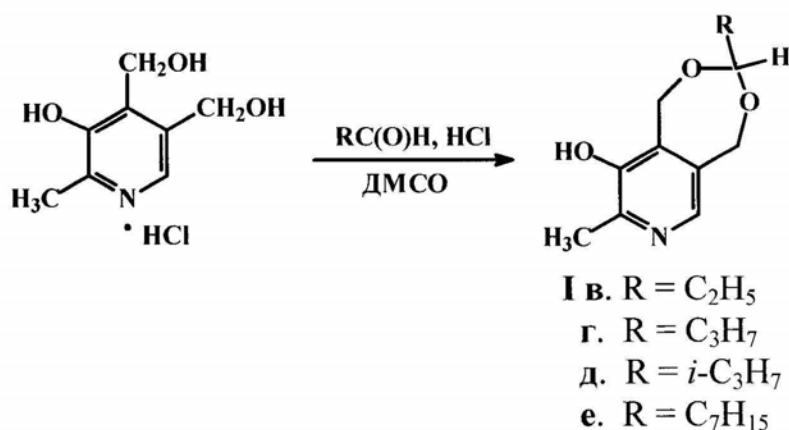


Схема 2

Для синтеза ацеталей с длинноцепочечными заместителями был разработан подход, основанный на конденсации пиридоксина с карбонильной

компонентой с азеотропной отгонкой воды в ароматических растворителях. В качестве катализатора была использована пара-толуолсульфокислота. При использовании этой методики наряду с целевым семичленным ацеталем образуется термодинамически выгодный шестичленный изомер. Соотношение этих продуктов сильно зависит от условий реакции - количества катализатора и температуры. При использовании эквимольного соотношения пиридоксина и кислоты Бренстеда наблюдается образование только шестичленного изомера, структура которого установлена методом РСА (рисунок 1).

Варьированием природы растворителя и концентрации катализатора удалось оптимизировать условия получения кинетически контролируемого семичленного ацетала с хорошими выходами (схема 3).

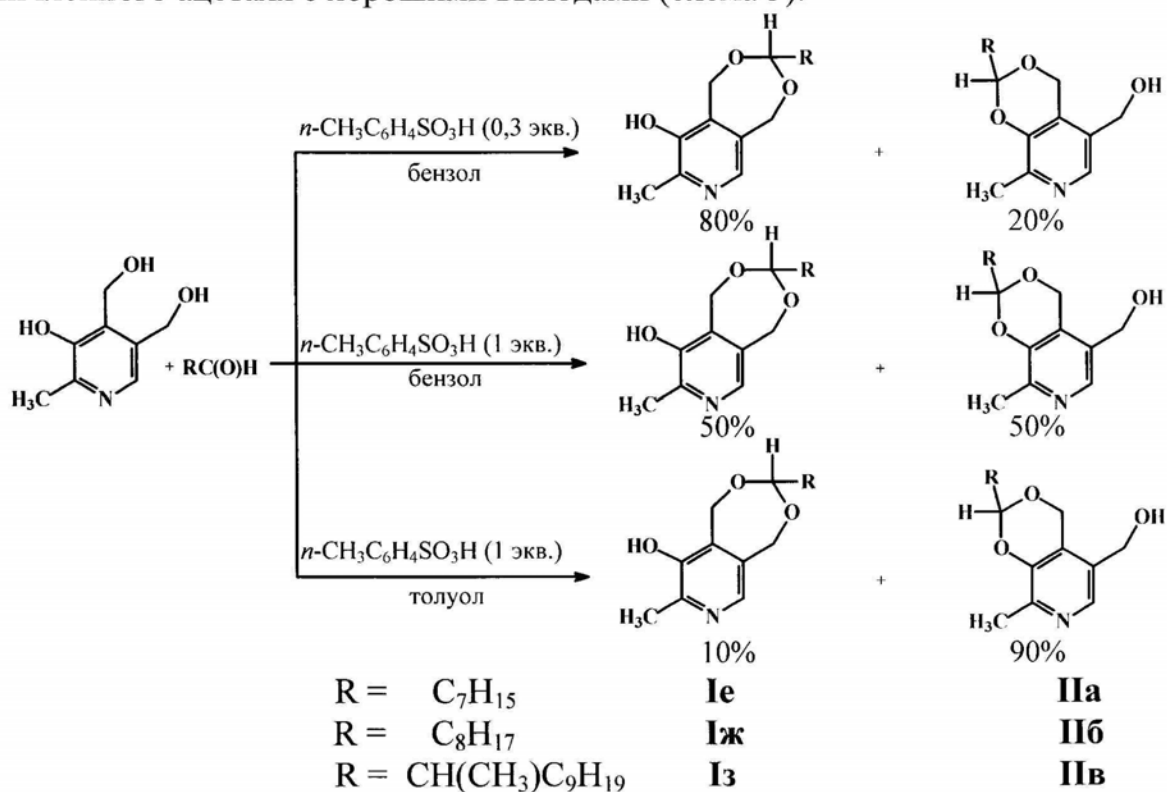


Схема 3

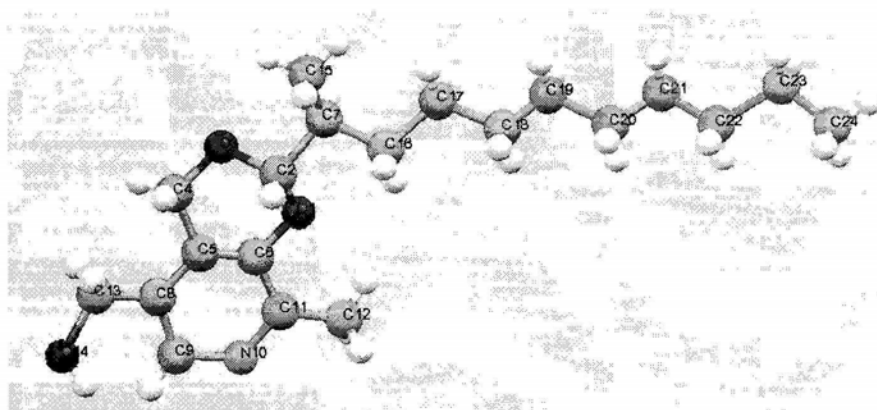
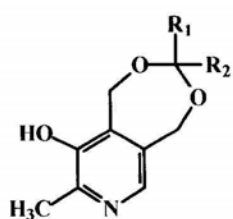
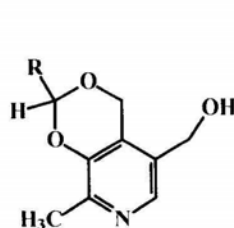


Рисунок 1 Геометрия молекулы IIв в кристалле

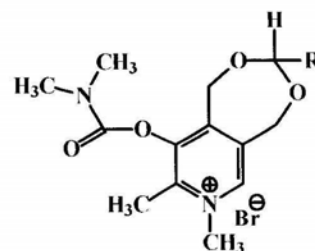
Карбаматы пиридиниевых солей семичленных ацеталей пиридоксина (**III**) были получены ацилированием ацеталей пиридоксина с последующим алкилированием бромистым метилом. Азопроизводные (**IV** - **VI**) получены по реакции диазотирования с последующим ацилированием (схемы 4,5). Взаимодействием диметилкетала пиридоксина **Iб** с гексаметилендиизоцианатом синтезирован бис(1,5-дигидро-3,3,8-триметил-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридин-9-ил)гексан-1,6-дикарбамат (**VII**). Реакции протекают мягко с выходом от 50 до 90 %. Структура всех соединений подтверждена данными ЯМР ^1H и ^{13}C -спектроскопии, элементным анализом.



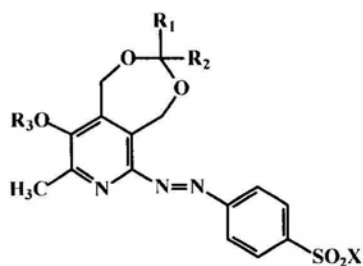
I



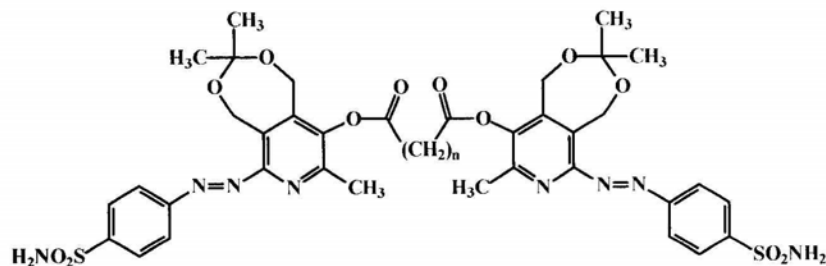
II



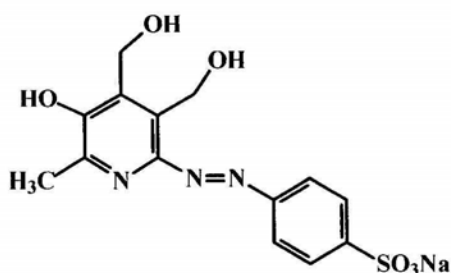
III



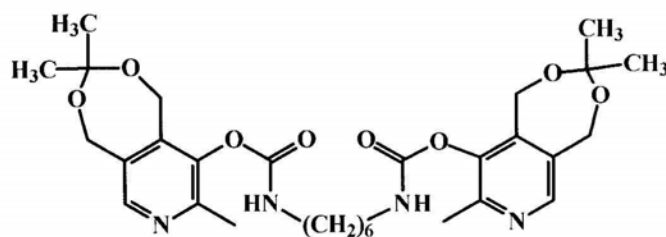
IV



V



VI



VII

- I а)** $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{CH}_3$; **б)** $\text{R}_1 = \text{CH}_3$, $\text{R}_2 = \text{CH}_3$; **в)** $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{CH}_3$;
г) $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; **д)** $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$; **е)** $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{C}_7\text{H}_{15}$;
ж) $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{C}_8\text{H}_{17}$; **з)** $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_9\text{H}_{19}$
II а) $\text{R} = \text{C}_8\text{H}_{17}$; **б)** $\text{R} = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_9\text{H}_{19}$
III а) $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}_3$; **б)** $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$; **в)** $\text{R} = \text{C}_7\text{H}_{15}$; **г)** $\text{R} = \text{C}_8\text{H}_{17}$;
д) $\text{R} = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_9\text{H}_{19}$

- IV а)** $R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, \quad X = \text{NH}_2$
б) $R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{C}(\text{O})\text{CH}_3, X = \text{NH}_2$
в) $R_1 = \text{H}, \quad R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{Na}, \quad X = \text{ONa}$
г) $R_1 = \text{CH}_3, R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{Na}, \quad X = \text{ONa}$
д) $R_1 = \text{H}, \quad R_2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2, R_3 = \text{Na}, \quad X = \text{ONa}$
V а) $n = 4; \text{б) } n = 8.$

В соответствии с поставленной задачей, для улучшения транспортных свойств полученных производных пиридоксина, была проведена этерификация соединения **IVа** по ароматической гидроксильной группе. Следует отметить, что, в отличие от исходных ацеталей, этерификация азапроизводных уксусным ангидридом и хлорангидридами дикарбоновых кислот протекает в значительно более жестких условиях и сопровождается существенным осмолением. Таким путем удалось получить 1,5-дигидро-3,3,8-триметил-6-(пара-фенилсульфамидо-азо)-9-ацетилокси-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридин (**IVб**) с выходом не более 50% (схема 4). При вовлечении в реакцию хлорангидридов дикарбоновых кислот (адипиновой и себаценовой) выделить продукты не удалось.

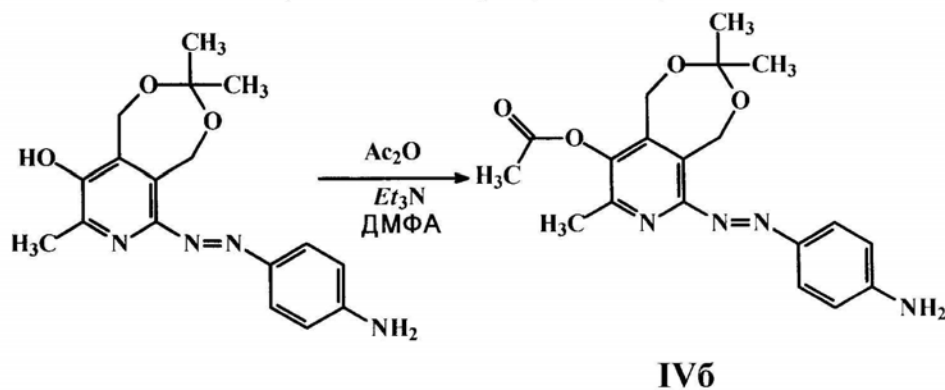


Схема 4

Соединения (**Vа,б**) были получены по методике активации карбоксильных групп дициклогексилкарбодиимидом (DCC) в присутствии 4-*N,N*-диметиламинопиридина (DMAP) (схема 5). При проведении реакции в течение двух недель при комнатной температуре выделены целевые эфиры адипиновой и себаценовой кислот с выходом 50 %.

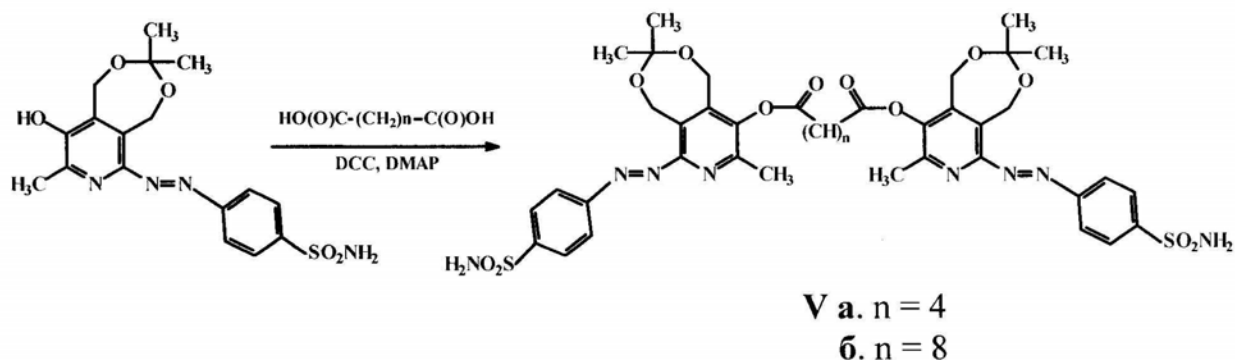


схема 5

Сложные эфиры азопроизводных ацеталей пиридоксина представляют собой кристаллические вещества ярко-розового или оранжевого цвета с температурой разложения выше 200°C, плохо растворимые в большинстве растворителей.

Неожиданный результат получился при алкилировании дикарбамата VII по атому азота пиридинового цикла. В отличие от диметилкарбамоильных производных пиридоксина, метилирование соединения VII не происходит даже в жестких условиях при варьировании широкого круга растворителей.

К еще более неожиданному результату привела попытка алкилирования атома азота карбаматного фрагмента в присутствии ряда оснований. При использовании гидрида натрия, большого избытка карбоната цезия и триэтиламина в спектрах ЯМР ^1H реакционной массы наблюдаются сигналы только исходных реагентов.

При использовании в качестве основания бутиллития образуется этилпиридиниевая соль VIII (схема 6).

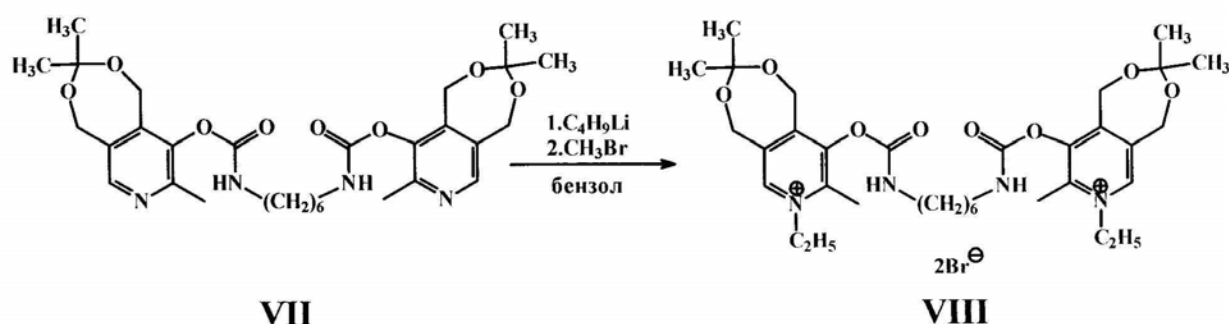


Схема 6

Основываясь на экспериментальных данных, результатах квантовохимических расчетов термодинамической C-H и N-H кислотности и литературных данных, можно предположить следующую схему реакции (схема 7):

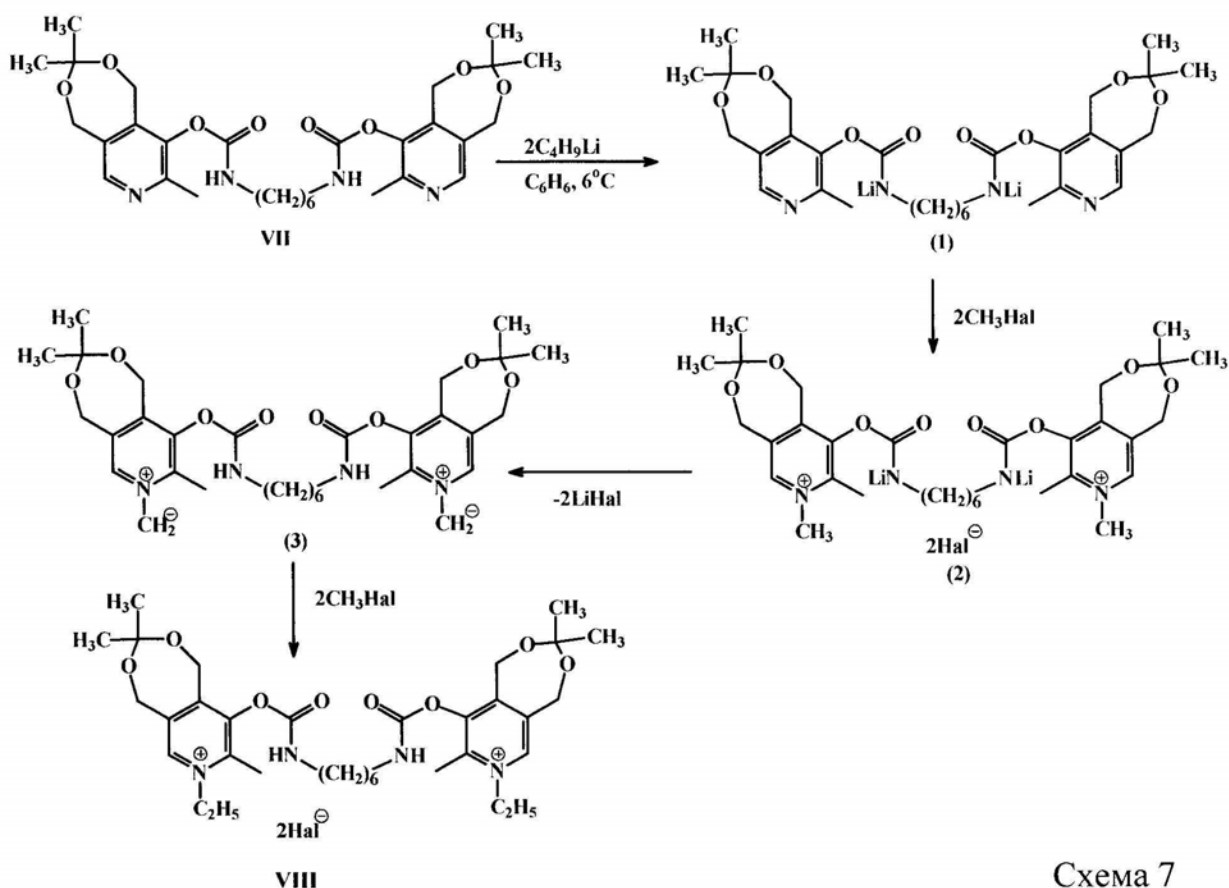


Схема 7

Не вызывает сомнений, что эта необычная реакция несет за собой богатый синтетический потенциал и представляет интерес для дальнейшего глубокого изучения.

Влияние строения сульфаниламидных и сульфаниловых производных пиридоксина на антибактериальную активность

Исследование антибактериальной активности новых производных пиридоксина проводилось в группе доцента Е.В. Никитиной. В качестве штаммов микроорганизмов были выбраны *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Реперными соединениями являлись стрептоцид (IX), сульфаниловая кислота (X) и широко применяемый в медицинской практике высокоэффективный антибиотик цефалоспоринового ряда – цефазолин (XI). Результаты биологических испытаний приведены в таблице 1.

Существенное варьирование липофильных характеристик производных пиридоксина с сульфаниламидным фрагментом (значения констант распределения в двухфазной системе вода-октанол изменяются почти на шесть порядков) не оказывает значительного влияния на их бактериостатические свойства.

Таблица 1 Ингибирование (в %) роста патогенных бактерий тестируемыми веществами (концентрация 0.01 мг/мл) после разной продолжительности культивирования.

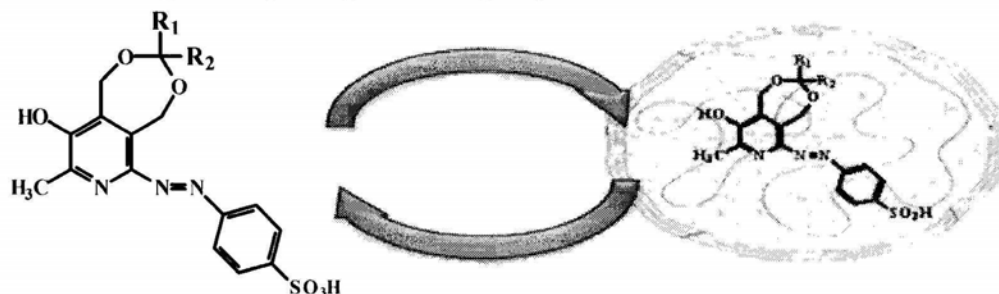
Соединение	P. vulgaris		P. aeruginosa		E. coli		S. aureus	
	6 ч	12 ч	6 ч	12 ч	6 ч	12 ч	6 ч	12 ч
IVa	26±4	57±6	9±5	76±6	31±3	61±6	18±7	41±5
IVб	30±3	54±4	28±6	77±7	33±4	54±7	22±4	40±3
IVв	7±4	8±2	17±2	15±4	4±2	5±1	3±2	4±3
IVг	50±6	35±4	62±4	51±7	32±6	23±7	93±5	85±6
IVд	9±3	10±4	-3±2	1±2	-3±2	2±2	-4±2	-2±1
Va	40±2	50±6	33±4	79±6	37±7	56±4	29±4	31±6
Vб	33±4	47±5	30±5	74±4	28±5	51±7	21±5	44±4
VI	32±2	51±3	39±3	76±7	34±7	54±6	17±6	38±4
IX	29±4	59±6	32±5	86±3	35±5	52±4	21±6	35±7
X	10±3	11±5	6±3	7±4	13±5	12±3	19±4	12±4
XI	52±5	88±4	47±6	62±6	54±7	89±5	54±7	93±5

Напротив, высокая антибактериальная активность некоторых производных сульфаниловой кислоты свидетельствует о ее высоком потенциале в качестве фармакофорной группы. Так, если исходная кислота практически не обладает антибактериальным действием, ее производное с пиридоксином (VI) ингибирует рост бактерий на уровне лекарственного препарата стрептоцида. Введение кетальной защиты гидроксиметильных групп приводит к разительному усилению свойств: соединение (IVг) при шестичасовом культивировании с микроорганизмами, как минимум, не уступает, а на некоторых штаммах и превосходит антибиотик цефалоспоринового ряда – цефазолин. В тоже время близкие по липофильности производные, содержащие метильный и изопропильный заместители у ацетального атома углерода IV(в, д), показывают неожиданно низкую активность на уровне сульфаниловой кислоты. Столь интересные результаты подтолкнули нас к проведению дополнительных экспериментов, в ходе которых были изучены транспортные свойства производных сульфаниловой кислоты.

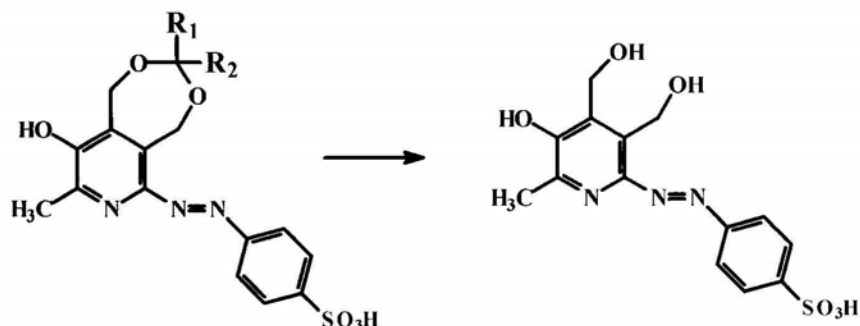
Исследование скорости поглощения соединений IV(г,д), VI клеточной культурой *Rhodotorula glutinis* с нарушенной клеточной стенкой было проведено на кафедре биохимии биолого-почвенного факультета КГУ в группе доцента Фаттаховой А.Н. Установлено, что в ряду соединений VI, IVг, IVд увеличение липофильности приводит к улучшению транспортных характеристик почти на порядок, что хорошо согласуется с известными в литературе данными, но, однако, находится в противоречии с данными по их

антибактериальной активности. Это позволяет заключить, что транспортные свойства соединений сульфанилового ряда не являются единственным фактором, определяющим их антибактериальную активность. Мы полагаем, что другим важным фактором может являться способность кеталей и ацеталей пиридоксина подвергаться ферментативному гидролизу с освобождением гидроксиметильных групп, играющих важную роль в процессе молекулярного распознавания ферментами. С учетом известных данных по скорости гидролиза 1,3-диоксацикланов (кетали \gg ацетали \gg формали), метаболизму сульфасалазина¹, а также наблюдаемого в процессе инкубирования исчезновения полосы поглощения хромофорной азагруппы, можно предположить следующую схему антибактериального действия производных пиридоксина (схема 8):

1-я стадия – транспорт через мембрану клетки.



2-я стадия – ферментативный гидролиз семичленного ацетального цикла.



3-я стадия – восстановление соединений азаредуктазами с выделением фармакоактивной сульфаниловой кислоты¹.

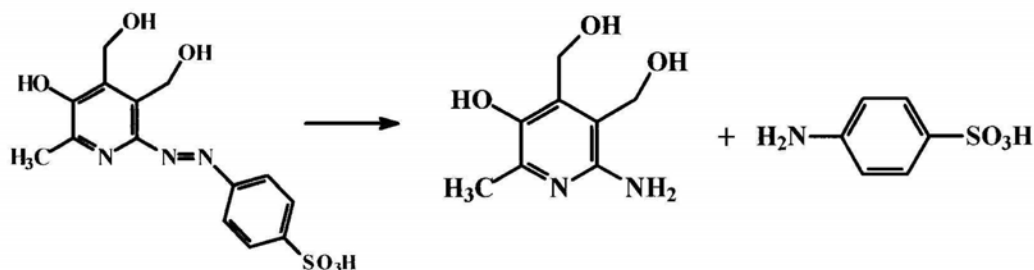


Схема 8

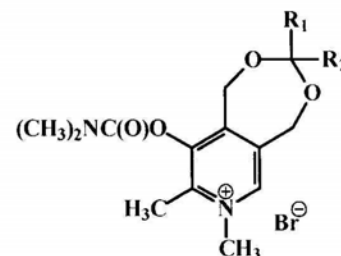
¹ Klotz, U. Topical delivery of therapeutic agents in the treatment of inflammatory bowel disease / U. Klotz, M. Schwab // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2005. – V. 57. – P. 267-279.

Таким образом, низкая активность соединений **IV(в,д)** обусловлена медленной стадией гидролиза ацетального фрагмента, а относительно невысокая активность производного пиридоксина **VI** - низкой скоростью переноса через мембрану клетки. Очевидно, что в соединении **IVг** удачно соединились как хорошие транспортные свойства, так и легкость снятия кетальной защиты гидроксиметильных групп пиридоксина после проникновения внутрь клетки.

Влияние строения карбамоилированных производных ацеталей пиридоксина на антихолинэстеразные свойства.

Изучение антихолинэстеразной активности *in vivo* серии соединений **III (а-д)** было проведено в ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН в группе профессора В.В. Зобова. В качестве реперных соединений использовали лекарственные препараты – прозерин и пиридостигмина бромид (калимин). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 Характеристики токсичности и ингибирования холинэстеразы 3-замещенных 1,5-дигидро-7,8-диметил-9-диметилкарбамоилокси-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридиний бромидов *in vivo* на мышах.



R ₁	R ₂	LD ₅₀ (мг/кг)	ED ₅₀ (мг/кг)	LD ₅₀ /ED ₅₀	Симптоматика
H	H	50 ²	30 ²	1.67	+
H	CH ₃	224 ²	65 ²	3,44	-
CH ₃	CH ₃	326 ²	100 ²	3,26	-
H	Et	150	75	2	*
H	Pr	100	60	1.67	*
H	<i>i</i> -Pr	98 ²	25 ²	3.92	+
H	<i>t</i> -Bu	50 ²	12 ²	4.16	+
H	C ₇ H ₁₅	38		12.67	*
H	C ₈ H ₁₇	47			-
H	CH(CH ₃)C ₉ H ₁₉	22			-
Калимин		3.27	0.77	4.25	+
Прозерин		0.51	0.13	3.92	+

- практически отсутствует антихолинэстеразная симптоматика; * яркая кратковременная (3-20 мин) антихолинэстеразная симптоматика; + яркая длительная (1-2 часа) антихолинэстеразная симптоматика

² Петухов А. С. Синтез, пространственная структура и свойства семичленных ацеталей пиридоксина: Дис... канд. хим. наук / А. С. Петухов - Казань, 2004.- 169 с.

Все полученные соединения уступают по активности лекарственным препаратам. По-видимому, это связано со стерическими эффектами орто-заместителей у карбаматного фрагмента и катионного центра, которые оказывают влияние как на устойчивость комплекса Михаэлиса, так и на процесс переноса $(\text{CH}_3)_2\text{NC}(\text{O})$ -фрагмента на гидроксильную группу серина каталитической триады фермента (схема 9). К достоинствам полученных соединений следует отнести их достаточно высокую терапевтическую эффективность ($\text{LD}_{50}/\text{ED}_{50}$), сопоставимую с лекарственными препаратами.

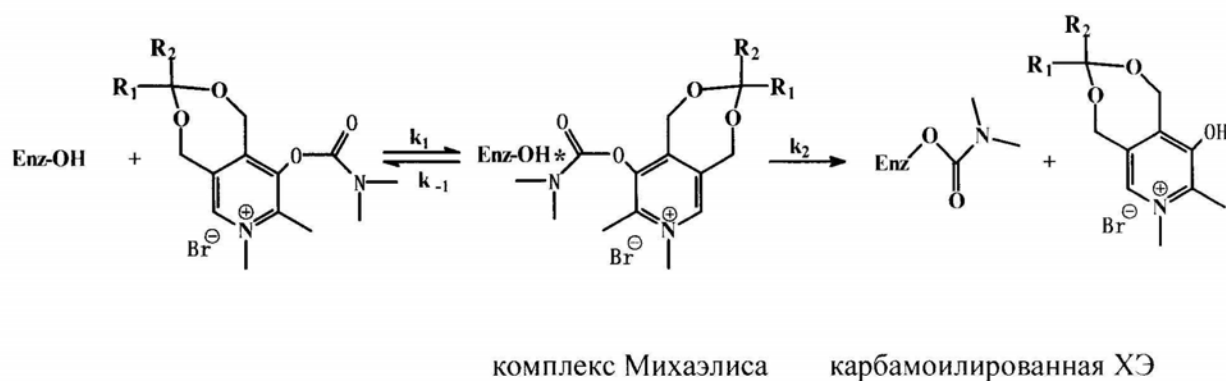


Схема 9

Обращает на себя внимание полное отсутствие антихолинэстеразной активности у соединений с октильным и α -метилдецильным заместителями, которые проявляют курареподобное действие.

Регрессионный анализ в рамках одно- и двухпараметровых уравнений с использованием в качестве независимых параметров стерических, индуктивных констант заместителей и липофильности соединений показал, что для всей реакционной серии корреляции отсутствуют. При исключении из реакционной серии производных формаля и кеталя, реализующихся в конформации твист, была обнаружена корреляционная зависимость (рисунок 2) хорошего качества между логарифмом летальной дозы (Log LD_{50}) конформационно однородных производных пиридоксина и липофильностью соединений (Log P). Аналогичная зависимость удовлетворительного качества имеет место и для эффективной действующей концентрации (Log ED_{50}) соединений с длительной симптоматикой, для которых удалось получить достоверные значения антихолинэстеразной активности:

$$\text{Log ED}_{50} = -(0.75 \pm 0.19) * \text{Log P} + (1.91 \pm 0.13)$$

$$R = 0.94; S = 0.15; n = 4$$

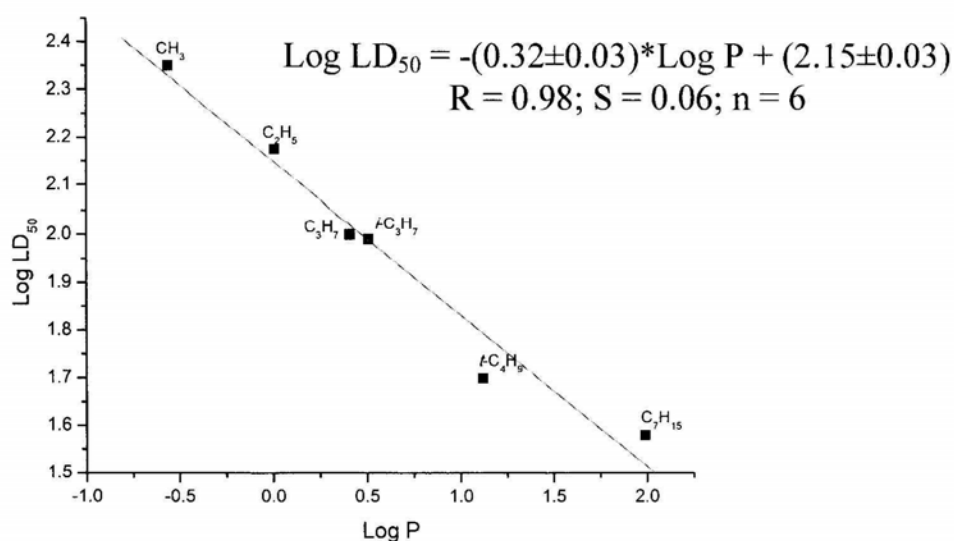


Рисунок 2 Зависимость логарифма летальной дозы (Log LD₅₀) от липофильности (Log P) 3-замещенных 1,5-дигидро-7,8-диметил-9-диметилкарбамоилокси-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридиний бромидов.

Таким образом, в ряду конформационно однородных производных ацеталей пиридоксина, реализующихся в конформации кресло, антихолинэстеразная активность определяется липофильностью соединений.

Важно отметить, что полученные соединения существенно различаются по длительности антихолинэстеразной симптоматики. Как и в рассмотренном выше случае, прослеживается отчетливая зависимость между скоростью неспецифического кислотного гидролиза формалей, ацеталей и кеталей пиридоксина и временем антихолинэстеразного действия (схема 10).

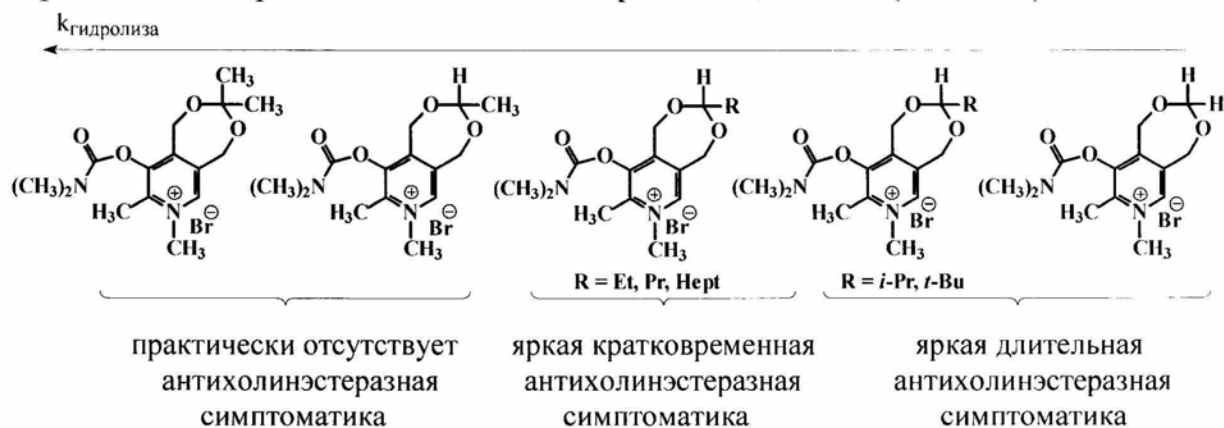


Схема 10

По-нашему мнению, наблюдаемую картину можно объяснить на основе известной особенности замещенных по третьему положению сложных эфиров пиридоксина, подвергающихся перегруппировке в термодинамически выгодные 4-замещенные производные (схема 11).

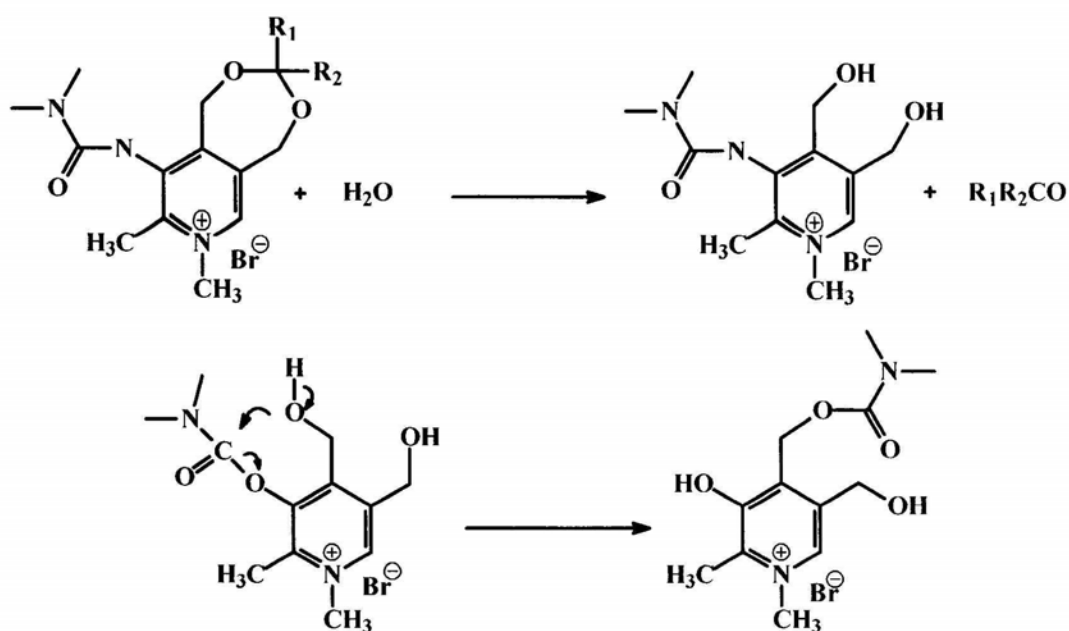


Схема 11

При протекании гидролитического процесса перенос карбамоильного фрагмента на ароматическую гидроксигруппу серина каталитической триады фермента становится термодинамически значительно менее выгодным и соединение утрачивает свою антихолинэстеразную активность (схема 12).

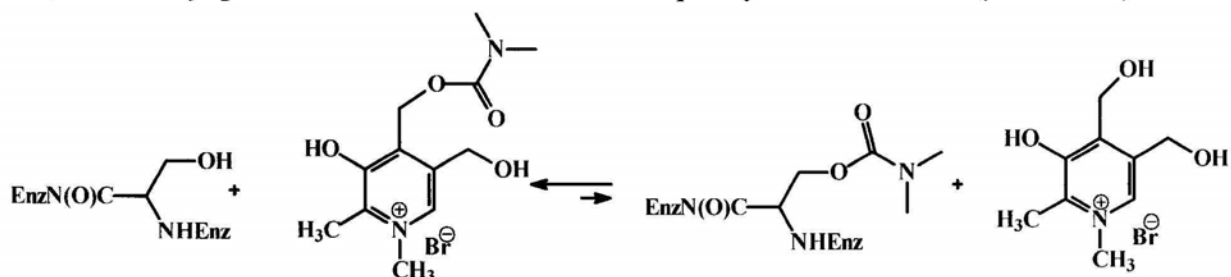


Схема 12

Таким образом, проведенные исследования показали, что использование семичленных ацеталей и кеталей пиридоксина является ценным инструментом для создания биологически активных соединений с различной специфической активностью. Весьма вероятно, что эксплуатация особенностей реакционной способности производных пиридоксина, для которого в природе имеются свои транспортные системы, приведет к созданию лекарственных препаратов нового поколения.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Впервые синтезирован широкий ряд семичленных ацеталей пиридоксина, значительно различающихся по гидрофильно-липофильному балансу.
2. Синтезированы новые карбамоилированные и азопроизводные пиридоксина, являющиеся структурными аналогами лекарственных препаратов.
3. Взаимодействие бис(1,5-дигидро-3,3,8-триметил-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридин-9-ил)гексан-1,6-дикарбамата с бромистым метилом в присутствии бутиллития приводит к образованию неожиданного продукта - [9,9'-(гексан-1,6-дикарбамоилокси)бис(1,5-дигидро-3,3,8-триметил-7-этил-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридиний)]дибромида.
4. Антибактериальная активность широкого ряда сульфаниламидных производных ацеталей пиридоксина практически не зависит от гидрофильно-липофильного баланса соединений.
5. Антибактериальные свойства производных сульфаниловой кислоты определяются липофильными характеристиками соединений и устойчивостью ацетального цикла к гидролизу. *n*-(1,5-Дигидро-3,3,8-триметил-9-гидрокси-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридинил-6-азо)фенилсульфо кислота ингибирует рост бактерий на уровне антибиотика цефалоспоринового ряда – цефазолина.
6. В ряду 1,5-Дигидро-3-*R*-7,8-диметил-9-диметилкарбамоилокси-[1,3]диоксепино[5,6-с]пиридиний бромидов средняя смертельная доза и эффективная действующая концентрация линейно уменьшаются с ростом липофильности соединений до $R = C_7H_{15}$. Дальнейшее увеличение длины алкильного заместителя приводит к смене мишени. С ростом скорости неспецифического кислотного гидролиза семичленных формалей, ацеталей и кеталей с планарным фрагментом длительность антихолинэстеразной симптоматики уменьшается.
7. Впервые показано, что использование ацеталей и кеталей пиридоксина для внутриклеточного транспорта гидрофильных фармакофорных групп является перспективным направлением медицинской химии.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Петухов, А.С. Стереохимические превращения некоторых семичленных диметилкеталей пиридоксина [Текст] / А.С. Петухов, А.Д. Стрельник, В.Ю. Федоренко, И.А. Литвинов, О.А. Лодочникова, Ю.Г. Штырлин, Е.Н. Климовицкий // Ж. общ. химии. - 2007. - Т.77, вып.8.- С.1339-1344.
2. Стрельник, А.Д. Синтез и биологические свойства сульфаниламидных производных пиридоксина [Текст] / А.Д. Стрельник, Е.В. Никитина, М.Р. Гарипов, Е.Н. Климовицкий, Ю.Г. Штырлин. // I Международная конференция "Новые направления в химии гетероциклических соединений": сб. науч. тр. - Кисловодск, 2009. – С. 163.
3. Петухов, А.С. Синтез и биологическая активность производных витамина В6 [Текст] / А.С. Петухов, А.Д. Стрельник, А.С. Талан, Н.В. Штырлин, Ю.Г. Штырлин, Е.Н. Климовицкий // V Республиканская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов: тез. докл. – Казань, 2005. - С. 70.
4. Стрельник, А.Д. Антихолинэстеразные свойства производных витамина В6 [Текст] / А.Д. Стрельник // XIV Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных "Ломоносов-2007": тез. докл. – Москва: Химия, 2007. - С. 500.
5. Стрельник, А.Д. Синтез и антибактериальные свойства азасульфаниламидных производных пиридоксина [Текст] / А.Д. Стрельник, М.Р. Гарипов, Е.В. Никитина // VIII Научная конференция молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра Казанского государственного университета «Материалы и технологии XXI века»: тез. докл. – Казань, 2008. – С. 78.
6. Стрельник, А.Д. Антихолинэстеразные свойства производных витамина В₆ [Текст] / А.Д. Стрельник, А.С.Петухов, Л.П.Сысоева, В.В.Зобов, Е.Н.Климовицкий, Ю.Г.Штырлин // II региональная научно-практическая конференция «Синтез и перспективы использования новых биологически активных соединений»: тез. докл. - Казань, 2009.
7. Рахимова, З.М. Синтез и биологическая активность 6-замещенных производных пиридоксина [Текст] / З.М.Рахимова, М.Р. Гарипов, А.Д. Стрельник, Н.В. Штырлин // IX Научная конференция молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра Казанского государственного университета «Материалы и технологии XXI века» (07-08.12.2009): тез. докл. – Казань, 2009. – С. 25.

*Отпечатано в ООО «Печатный двор».
г. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207
Тел: 272-74-59, 541-76-41, 541-76-51.
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001 г.
Выдана Поволжским межрегиональным
территориальным управлением МПТР РФ.
Подписано в печать 22.12.2009 г. Печ.л. 1,0
Заказ № К-6816. Тираж 120 экз. Формат 60x84 1/16.
Бумага офсетная. Печать - ризография.*